

## IMPLANTE DE HIDROXIAPATITA EM ALVÉOLOS DENTAIS. ESTUDO HISTOPATOLÓGICO EM RATOS

Eloisa Marcantonio BOECK\*

Cyneu Aguiar PANSANI\*\*

Tetuo OKAMOTO\*\*\*

Gilberto GOISSIS\*\*\*\*

Rodolfo Jorge BOECK NETO\*\*\*\*\*

Elcio MARCANTONIO JÚNIOR\*\*\*\*\*

- RESUMO: O objetivo deste trabalho foi estudar histopatologicamente o comportamento de uma hidroxiapatita implantada em alvéolos dentais de ratos. Para tanto, foram utilizados 40 ratos machos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Holtzman) divididos em dois grupos que, após exodontia do incisivo superior direito, receberam o seguinte tratamento: grupo G1, controle (não tratado), e grupo G2, implante de hidroxiapatita particulada (64 µm). Os animais de cada condição experimental foram sacrificados em grupos de quatro aos 4, 7, 15, 24 e 60 dias pós-operatórios, sendo os espécimes submetidos à tramitação labora-

---

\* Mestre em Odontopediatria – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

\*\* Departamento de Clínica Infantil – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

\*\*\* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015-050 – Araçatuba – SP.

\*\*\*\* Departamento de Química e Física Molecular – Instituto de Química – USP – 13560-970 – São Carlos.

\*\*\*\*\* Doutorando da Disciplina de Periodontia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

\*\*\*\*\* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14801-903 – Araraquara – SP.

torial de rotina para análise histopatológica. Os resultados mostraram que a hidroxiapatita testada produziu um atraso na cronologia do processo de reparo alveolar em comparação aos animais controle, uma vez que menos tecido ósseo foi formado ao longo de todos os períodos. Além disso, o material utilizado apresentou compatibilidade biológica, pois foi integrado pelos tecidos ao longo do processo de reparo.

- PALAVRAS-CHAVE: Hidroxiapatitas; materiais biocompatíveis; implantes dentários.

## Introdução

O interesse na aplicação de biomateriais à base de fosfato de cálcio tem aumentado consideravelmente em face de suas indicações para tratar defeitos ósseos dos maxilares em razão de sua capacidade osteocondutora, interagindo como matriz de mineralização.

A cerâmica de fosfato de cálcio empregada com maior frequência para substituir osso é a hidroxiapatita  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ , pela sua semelhança química e cristalográfica com o osso mineral, o qual é constituído basicamente por matriz inorgânica de  $\text{CO}_3$ -apatita (Meghji<sup>11</sup>).

O propósito do presente trabalho foi avaliar histopatologicamente o comportamento de uma hidroxiapatita experimental, implantada em alvéolos dentais de ratos, sintetizada na proporção cálcio/fósforo de 1,55 (pelo Instituto de Física e Química do Campus de São Carlos da USP), tornando-a mais próxima ao osso imaturo, o que, teoricamente, favorece a propriedade de osteocondução (Bet<sup>2</sup>).

## Material e método

Foram utilizados para o presente trabalho 40 ratos (*Rattus norvegicus*, *albinus*, Holtzman), machos, com peso variando de 120 a 150 g, divididos em: grupo controle (G1) e grupo experimental (G2). Os animais, após anestesia com Thionembutal,\* tiveram o incisivo superior direito extraído e, a seguir, os 20 animais do grupo G1 (controle) tiveram suas feridas imediatamente suturadas com fio de seda 4.0.\*\* Nos animais do grupo G2 a hidroxiapatita de 64  $\mu\text{m}$  foi introduzida no alvéolo por meio de um porta-amálgama para obturação retrógrada, sem ser condensada, e, logo após, as feridas foram suturadas de forma semelhante ao grupo G1. Todos os animais dos grupos G1 e G2 receberam, por via intramuscular,

\* Fontoura Wyeth S.A./Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.

\*\* Ethicon Johnson & Johnson Produtos Profissionais Ltda.

dose única de 16.000 UI de penicilina G, Benzatina.\* Os animais de cada condição experimental foram sacrificados em grupos de quatro, com inalação de éter sulfúrico aos 4, 7, 15, 24 e 60 dias pós-operatórios. Após a redução das peças e tramitação laboratorial de rotina, foram obtidos cortes semi-seriados, no sentido longitudinal, com 6 micrometros de espessura, corados pela hematoxilina e eosina, a fim de possibilitar a análise histopatológica.

## Resultado

Para a descrição dos resultados, o alvéolo dental foi dividido em três terços: cervical, médio e apical, considerados a partir da abertura do alvéolo, em direção à sua parte apical.

### 4 dias

Em alguns pontos, evidencia-se a formação de matriz óssea com numerosos osteoblastos nas bordas (Figura 1).

Grupo II (implante). O material de implante encontra-se, geralmente, entre o terço médio e o cervical (Figura 2).

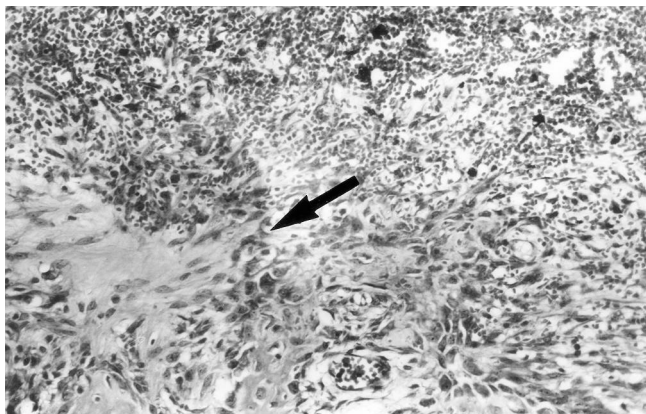


FIGURA 1 – Grupo I (controle). 4 dias. Formação de matriz óssea (seta) com numerosos osteoblastos nas proximidades. HE 160x.

### 7 dias

\* Benzetacil, Fontoura Wyeth.

Grupo I (controle). Junto ao terço médio (Figura 3) e apical e com maior intensidade no lado lingual, evidenciam-se pequenas espículas

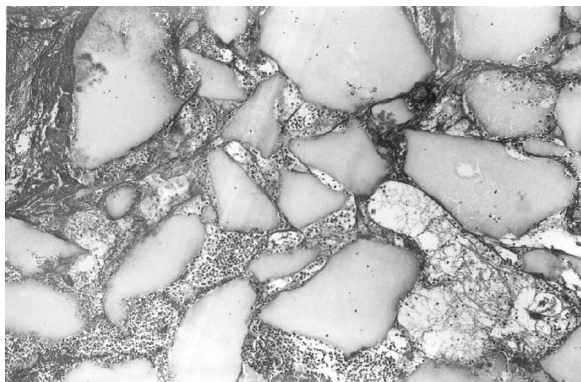


FIGURA 2 – Grupo II (implante). 4 dias. Evidenciando o implante entre o terço cervical e o médio do alvéolo. HE 63x.

ósseas neoformadas com numerosos osteoblastos em suas bordas.

Grupo II (implante). Envolvendo o implante evidencia-se tecido conjuntivo (Figura 4) bem desenvolvido e rico em fibroblastos.

15 dias

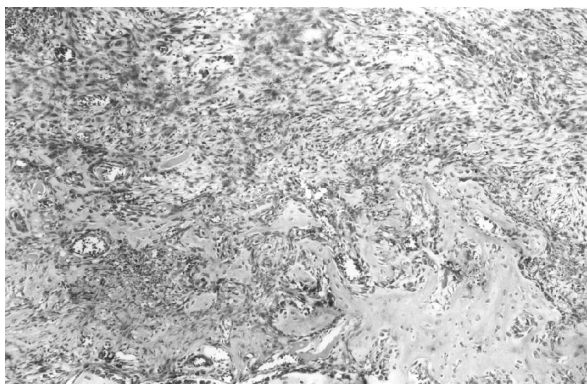


FIGURA 3 – Grupo I (controle). 7 dias. Terço médio do alvéolo, evidenciando pequenas espículas ósseas neoformadas. HE 63x.



FIGURA 4 – Grupo II (implante). 7 dias. Implante que mostra tecido conjuntivo envolvendo o implante. HE 63x.

Grupo I (controle). Junto aos terços médio (Figura 5) e apical observam-se trabéculas ósseas neoformadas.

Grupo II (implante). O implante acha-se envolto por tecido conjuntivo sem diferenciação óssea (Figura 6). O alvéolo dental, com exceção do terço apical, se encontra ocupado por trabéculas ósseas, regulares; os demais terços mostram pequena quantidade de tecido ósseo neoformado nas proximidades da parede alveolar (Figura 7).

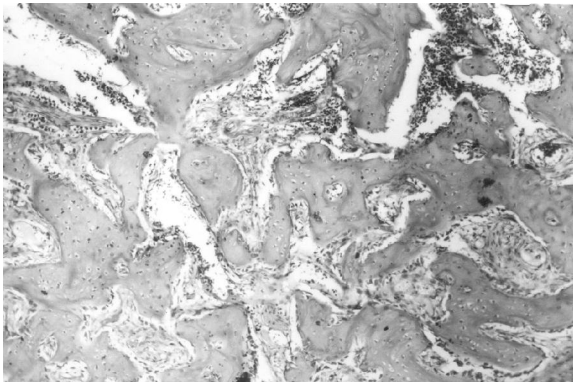


FIGURA 5 – Grupo I (controle). 15 dias. Terço médio do alvéolo mostrando trabéculas ósseas espessas. HE 63x.

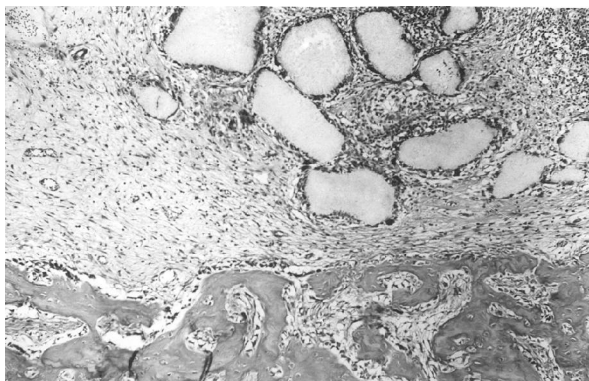


FIGURA 6 – Grupo II (implante). 15 dias. Mostrando o implante envolto por tecido conjuntivo. HE 63x.

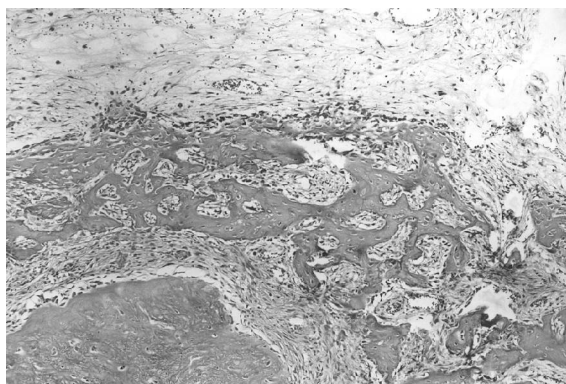


FIGURA 7 – Grupo II (implante). 15 dias. Terço médio do alvéolo com pequena quantidade de trabéculas ósseas próximas à parede óssea alveolar. HE 63x.

24 dias

Grupo I (controle). O alvéolo dental, ao longo dos três terços alveolares, encontra-se ocupado por trabéculas ósseas espessas e bem definidas (Figura 8).

Grupo II (implante). Formação óssea com pequenas áreas de tecido ósseo neoformado em contato com o implante (Figura 9).

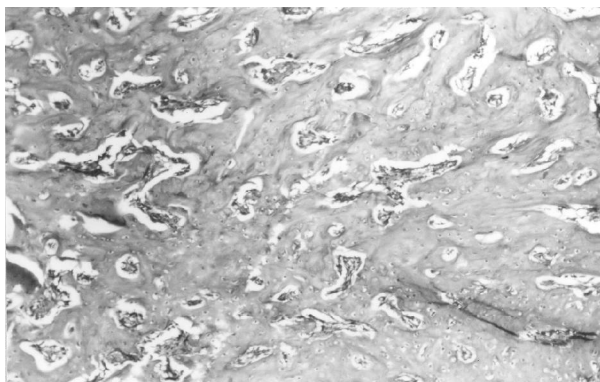


FIGURA 8 – Grupo I (controle). 24 dias. Terço médio do alvéolo evidenciando trabéculas ósseas espessas e bem definidas. HE 63x.

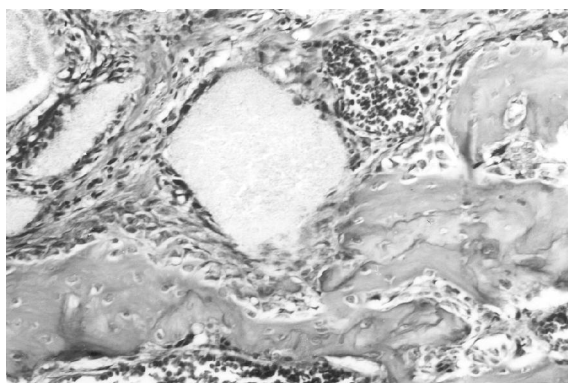


FIGURA 9 – Grupo II (implante). 24 dias. Pequena área do tecido ósseo em contato com o implante. HE 160x.

60 dias

Grupo I (controle). O alvéolo dental em sua totalidade encontra-se ocupado por tecido ósseo bem definido (Figura 10).

Grupo II (implante). Na maioria dos casos, observam-se pequenas partículas do implante entre o trabeculado ósseo, sem, no entanto, entrar em contato com o tecido ósseo (Figura 11).



FIGURA 10 – Grupo I (controle). 60 dias. Tecido ósseo bem definido junto ao terço médio do alvéolo. HE 63x.

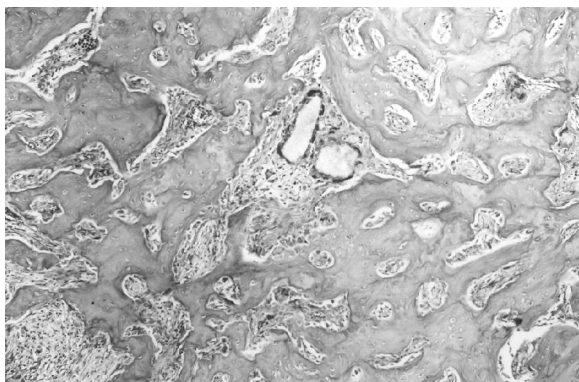


FIGURA 11 – Grupo II (implante). 60 dias. Pequenas partículas do implante com tecido ósseo neoformado nas proximidades. HE 63x.

## Discussão

As hidroxiapatitas em contato direto com tecidos orgânicos não provocam reações de toxicidade local ou sistêmica (Cobb et al.<sup>4</sup> Ettl et al.<sup>5</sup>). Além da biocompatibilidade, especula-se sobre o seu potencial para estimular a formação óssea, quer seja sob a forma de implantes onlay quer seja inlay, relativamente à sua intimidade com o osso. Está



demonstrado que esses materiais não constituem osteoindutores, por não promoverem formação óssea ectópica; entretanto, podem servir como “matriz de mineralização”, quando implantados em contato com tecido ósseo, demonstrando propriedades osteocondutoras (White & Shors<sup>15</sup>).

Na verdade, as hidroxiapatitas apresentam uma gama de variações físico-químicas, tais como cristalinidade, porosidade, forma, granulometria, tamanho de partículas e proporção cálcio/fósforo (Legeros<sup>10</sup>). Dessa forma, o estudo dos diferentes materiais disponíveis no mercado, bem como de novas formulações, é importante para a busca de melhores resultados.

Gabrielli<sup>6</sup> utilizou uma hidroxiapatita contendo a relação cálcio-fósforo de 1,55; proporção que se aproxima do osso imaturo, o que poderia favorecer a osteocondução. Em vista de seus resultados, entendemos oportuna a utilização desse mesmo material em alvéolo dental de ratos, para verificar, também nesse local, sua capacidade osteocondutora. A escolha do alvéolo de extração dental deveu-se à oportunidade da utilização dessa hidroxiapatita como material de preenchimento, capaz de favorecer a qualidade do novo osso alveolar. Reconhecidamente, o alvéolo de extração dentária tem sido uma área de grande concentração em pesquisas para a observação de possíveis fatores que possam interferir no processo de reparação, acelerando-o ou retardando-o (Carvalho & Okamoto;<sup>3</sup> Santos Pinto<sup>14</sup>).

Nossos resultados mostraram que o material implantado, em todos os períodos estudados (G2), situou-se entre os terços médio e cervical, muito embora tivéssemos procurado colocá-lo mais nos terços médio e apical. Provavelmente, sua ausência no terço apical deveu-se à anatomia do incisivo do rato, que teria dificultado a penetração do material nessa região. Da mesma forma, pode ter havido deslocamento decorrente do sangramento.

O estudo demonstrou, nos períodos de 4 e 7 dias (Grupos I e II), a ocorrência de fenômenos biológicos similares no terço apical, com a presença de pequenas espículas ósseas neoformadas. Essa semelhança é explicada naturalmente pelo preenchimento da área de ambos os grupos por coágulo sanguíneo e progressão normal do processo de reparação.

No grupo implantado, os terços médio e cervical mostraram polimorfonucleares, neutrófilos e macrófagos, pela reação inicial perante o material presente. Observa-se, entretanto, que aos 7 dias não é referida a presença de neutrofilia e que o implante é envolvido por tecido conjuntivo bem desenvolvido e rico em fibroblastos. Apesar dessa predomi-

nância, em alguns pontos dos terços cervical e médio verifica-se a presença, ainda, de coágulo sanguíneo com inúmeros macrófagos em seu interior, fenômeno que também é descrito no grupo controle aos 7 dias.

Portanto, a análise histológica evolutiva de comportamento do grupo implantado nos períodos iniciais de 4 e 7 dias se comporta à semelhança do processo reparativo do grupo controle.

O epitélio da mucosa gengival do grupo tratado ainda aos 7 dias apresenta solução de continuidade com a presença de linfócitos e macrófagos no conjuntivo subjacente, ocorrendo o recobrimento da ferida cirúrgica somente a partir de 15 dias de pós-operatório. A presença do material não favoreceu a velocidade regenerativa do epitélio para cobrir a cavidade alveolar, que ocorreu mais precocemente no grupo controle.

Com base nos resultados iniciais do grupo tratado, entendemos que a presença do material no terço cervical dificultou o fechamento primário da ferida, agindo como causa perturbadora da cicatrização.

A diminuição de volume do material implantado, observada já aos 15 dias, envolvido algumas vezes por tecido conjuntivo sem diferenciação óssea e outras por pequenas trabéculas ósseas neoformadas, demonstrou que o implante provavelmente foi absorvido parcialmente, comportando-se como material biodegradável, como relatado por Gabrielli.<sup>6</sup> É possível, ainda, que uma parte tenha sofrido exfoliação.

Entretanto, aos 24 dias, o volume do material existente é semelhante ao estágio de 15 dias, com maior formação óssea nas suas proximidades, exibida ao longo dos terços alveolares. Esse mesmo material empregado em arco zigomático de ratos permitiu intensa proliferação osteoblástica após 15 dias de análise. Porém, nesse caso, a ferida era fechada, não se observando evidência de exfoliação do material ou reação de corpo estranho. No mesmo trabalho, também foi notada alguma redução no volume do material, sugerindo que ele é parcialmente reabsorvível (Gabrielli<sup>6</sup>). Segundo Bagambisa & Joos,<sup>1</sup> o cálcio liberado pela dissolução do material mediará a ligação entre os materiais à base de fosfato de cálcio e o osso.

A análise comparativa aos 24 dias, entre os grupos controle e experimental do nosso trabalho, mostrou histologicamente que o alvéolo dos animais do grupo controle foi ocupado por trabéculas ósseas espessas, conforme já observaram Okamoto & Russo,<sup>12</sup> ao contrário do grupo teste.

No grupo tratado, aos 60 dias verificou-se, ainda, a presença de pequenas partículas do implante isoladas do tecido ósseo. O experimen-

to mostrou que o material testado praticamente não era mais significativo no alvéolo e, além disso, retardou o processo reparativo.

Na literatura, tornam-se bem evidentes as diferenças de comportamento do material testado em locais diferentes. Enquanto Gabrielli<sup>6</sup> descreve a incorporação óssea consistente da hidroxiapatita implantada em arco zigomático, os nossos resultados aos 60 dias ainda exibem partículas do implante sem contato ósseo. Acreditamos que o meio bucal e/ou a solução de continuidade epitelial nos tempos iniciais, além de retardar o processo de reparo, dificultaram sobremaneira a incorporação do material pelo osso neoformado. A contaminação proveniente do meio bucal pode, ainda, contribuir para as diferenças entre os resultados.

Muito embora não tenhamos medido a taxa de absorção, o material por nós testado comportou-se à semelhança da Biohidroxi-Inodon (hidroxiapatita microgranular), apresentando alguma taxa de absorção (Rosa,<sup>13</sup> Zenóbio<sup>17</sup>), diferentemente de outras hidroxiapatitas que, de forma geral, não são absorvíveis (Jarcho<sup>9</sup>). A ausência predominante de células fagocíticas nos faz crer na ocorrência da biodegradação por dissolução química em virtude do modo de reparação do alvéolo.

A perda em volume do material poderia, portanto, ter ocorrido circunstancialmente ou talvez por processo de reabsorção, desde que, segundo o fabricante, este apresentasse traços de betafosfato tricálcio (Bet<sup>2</sup>). Não notamos presença de células clásticas. Segundo Yates et al.,<sup>16</sup> a concentração elevada de íons fosfato favorece a fisiologia óssea e inibe a atividade de tais células.

Entretanto, mesmo aos 60 dias, verificaram-se partículas do implante sem contato ósseo. Imagina-se, num período mais longo, que partículas com menos de 50 micrometros poderão ser fagocitadas, conforme demonstrou Gregoire et al.,<sup>8</sup> em culturas de osteoblastos ou como afirmam Grangeiro et al.<sup>7</sup> Esses autores relataram em seus estudos que o produto comercialmente conhecido como Biohidroxi-Inodon possui potencial de reabsorção por fagocitose. Tal produto, segundo os autores, possui grânulos de 10 a 50 micrometros e sua composição é unicamente de cálcio e fosfato, exibindo um alto grau de pureza. A liberação de íons desses minerais comparativamente a outros materiais testados favorece a estimulação de células envolvidas no processo biológico. Esse mesmo material (Biohidroxi-Inodon) foi estudado por Rosa<sup>13</sup> e Zenóbio.<sup>17</sup> Os autores verificaram biocompatibilidade com atraso no processo de reparo alveolar.

Utilizada após a extração dentária, a hidroxiapatita testada comportou-se desfavoravelmente, quando comparada com o grupo controle, muito embora não tenha sido observada reação de corpo estranho.

Pelos resultados obtidos, entendemos que o material testado, por suas propriedades, tem indicação como agente osteocondutor, sem entretanto favorecer o processo de reparo alveolar. Sua aplicação maior seria para recobrir defeitos ósseos quando se deseja restabelecer a anatomia da área, na expectativa de que seja formado novo osso. Seu emprego em alvéolos de extração dental, mesmo com o propósito de evitar o colapso das tábuas ósseas, não seria indicado por ter-se comportado como material absorvível, portanto não permanecendo no alvéolo nem acelerando a cronologia do processo de reparação óssea.

## Conclusão

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho, nos limites da metodologia empregada, pudemos concluir que:

- 1 A hidroxiapatita testada mostrou-se biocompatível.
- 2 O material testado promoveu atraso na reparação da cavidade alveolar quando comparado ao grupo controle.
- 3 O material utilizado foi parcialmente reabsorvido e o remanescente, integrado aos tecidos do leito receptor.

BOECK, E. M. et al. Hydroxyapatite implants in dental sockets. Histopatological study in rats. Rev. Odontol. UNESP (São Paulo), v.28, n.1, p.83-96, 1999.

- **ABSTRACT:** The objective of this study was to verify histopatologically the behavior of an experimental hydroxyapatite implanted into dental sockets of rats. Forty male rats (*Rattus norvegicus*, albinus, Holtzman) had the upper right incisors extracted and were divided into two groups, according to treatment, as follows: group G<sub>1</sub>, control (no treatment) and group G<sub>2</sub>, implant of particulate hydroxyapatite (64 µm). Four animals from each group were sacrificed at 4, 7, 15, 24 and 60 days postoperatively and the specimens were submitted to histopatological analysis. The results showed that the hydroxyapatite tested delayed the healing process when compared with the control. Less bone tissue formation was evident in all the healing periods. The

material used presented biological compatibility because it was integrated to the tissues during the healing process.

- KEYWORDS: Hydroxyapatites; biocompatible materials; dental implants.

## Referências bibliográficas

- 1 BAGAMBISA, F. B., JOOS, U. Preliminary studies on the phenomenological behavior of osteoblasts cultured on hydroxyapatite ceramics. *Biomaterials*, v.11, p.50-6, 1990.
- 2 BET, M. R. Preparação e caracterização de biocerâmicas compostas de colágeno e sais de fosfato de cálcio. São Carlos, 1995. 62p. Dissertação (Mestrado em Ciências Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo.
- 3 CARVALHO, A. C. P., OKAMOTO, T. Reparação do alvéolo dental. In: \_\_\_\_\_. *Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica*. São Paulo: Panamericana, 1987. p.55-80.
- 4 COBB, C. M. et al. Restoration of mandibular continuity defects using combinations of hydroxyapatites and autogenous bone: microscopia observations. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, v.48, p.268-75, 1990.
- 5 ETTEL, R. G. et al. Porous hydroxyapatite grafts in chronic subcrestal periodontal defects in rhesus monkeys: a histological investigation. *J. Periodontol.*, v.60, p.342-51, 1989.
- 6 GABRIELLI, M. A. C. Implantes de hidroxiapatita associados ou não a colágeno, em arco zigomático de ratos. Estudo histológico. Araraquara, 1995. 110p. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 7 GRANGEIRO, J. M. et al. Hidroxiapatita para uso clínico. Caracterização físico-química. *RGO*, v.40, p.130-4, 1992.
- 8 GREGOIRE, M., ORLY, I., MENANTEAU, J. The influence of calcium phosphate biomaterials on human bone cell activities. An in vitro approach. *J. Biomed. Mater. Res.*, v.24, p.165-77, 1990.
- 9 JARCHO, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. *Clin. Orthop.*, v.157, p.259-78, 1981.
- 10 LEGEROS, R. Z. Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics. *Clin. Mater.*, v.14, p.65-88, 1993.
- 11 MEGHJI, S. Bone remodelling. *Br. Dent. J.*, v.172, p.235-42, 1992.
- 12 OKAMOTO, T., RUSSO, M. C. Wound healing following tooth extraction. Histochemical study in rats. *Rev. Fac. Odontol. (Araçatuba)*, v.2, p.153-69, 1973.

- 13 ROSA, A. L. Implante de hidroxiapatitas e de fosfato tricálcio em alvéolos dentais. Estudo histológico e esteriológico em ratos. Ribeirão Preto, 1994. 109p. Tese (Doutorado em Reabilitação Oral) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
- 14 SANTOS PINTO, R. Mineralização no processo de reparo em feridas de extração dental em cães. Estudo radiográfico e microscópio. Araçatuba, 1964. 73p. Tese (Livre-Docência) – Faculdade de Farmácia e Odontologia de Araçatuba.
- 15 WHITE, E., SHORS, E. C. Biomaterial aspects of Interpore-200-porous hydroxyapatite. *Dent. Clin. North Am.*, v.30, p.49-57, 1986.
- 16 YATES, A. J. et al. Inhibition of bone resorption by resorption phosphate is mediated by both reduced osteoclast formation and decreased activity of mature osteoclasts. *J. Bone Miner. Res.*, v.6, p.473-8, 1991.
- 17 ZENÓBIO, E. G. Avaliação do comportamento biológico de dois materiais sintéticos à base de fosfato de cálcio (Biohapatita e Osteogen) após a implantação em alvéolos de cães. Araraquara, 1996. 85p. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.